

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Traumatic Brain Injury (TBI)**

*Traumatic Brain Injury* (TBI) atau cedera otak traumatik merupakan cedera yang terjadi karena adanya tekanan mekanik eksternal yang mengenai cranium dan komponen intrakranial, sehingga menimbulkan kerusakan sementara atau permanen pada otak, gangguan fungsional, atau gangguan psikososial [16]. Secara umum, cedera kepala dibagi menjadi dua periode waktu terpisah yaitu cedera otak primer dan sekunder. Cedera otak primer adalah kerusakan fisik pada parenkim (jaringan dan pembuluh darah) yang terjadi selama peristiwa traumatis, sehingga menyebabkan kompresi jaringan otak di sekitarnya. Cedera otak sekunder merupakan kelanjutan hasil dari cedera otak primer dengan komplikasi utama cedera otak pada jam dan hari berikutnya. Banyak sekali komplikasi cedera otak sekunder meliputi intrakranial dan ekstrakranial atau sistemik, yang dapat memperberat cedera otak primer. Cedera otak sekunder mengakibatkan gangguan intrakranial meliputi edema serebral, hematoma, hidrosefalus, hipertensi intrakranial, vasospasme, gangguan metabolik, eksitotoksisitas, toksisitas ion kalsium, infeksi, dan kejang [17].

Cedera kepala menginduksi susunan kompleks respon immunological/inflamasi jaringan, mirip dengan cedera iskemik karena reperfusi. Cedera primer dan sekunder memicu pelepasan mediator seluler, meliputi sitokin proinflamasi, prostaglandin, radikal bebas, dan komplemen. Respon terhadap proses inflamasi, cedera dan jaringan sekitarnya akan dieliminasi dalam hitungan jam, hari, dan minggu [4].

Setengah angka kematian pada cedera otak traumatik terjadi pada 2 jam pertama setelah trauma. Beberapa data juga menunjukkan bahwa kerusakan neurologis tidak terjadi saat trauma (cedera primer), tetapi terjadi dalam beberapa menit, jam, dan hari. Hal ini menunjukkan bahwa akibat sekunder dari cedera menyebabkan peningkatan angka mortalitas dan kecacatan. Oleh karena itu, penanganan awal yang tepat merupakan hal yang sangat penting

pada cedera otak traumatik untuk mencegah cedera sekunder, sehingga dapat menurunkan angka mortalitas dan kecacatan [16].

### **2.1.1 Traumatic Brain Injury (TBI) primer**

Trauma primer merupakan mekanisme trauma yang terjadinya secara langsung setelah terjadinya cedera. Berdasarkan mekanisme dan keparahan trauma, gangguan pada jaringan otak yang terjadi berupa kerusakan akson, luka terbuka pada otak, pendarahan di sekeliling otak atau antara otak dengan tengkorak, dan memar pada otak. Tipe trauma ini dapat terjadi secara tunggal maupun kombinasi dan sering disertai dengan trauma pada banyak organ di bagian tubuh lain [18].

Secara klinis sejumlah aspek dari cedera primer inilah yang dinilai pada saat CT scan ataupun MRI kepala segera pasca cedera otak traumatik. Kerusakan korteks yang terjadi segera setelah cedera otak traumatik, menunjukkan adanya cedera primer yang tidak akan tertolong oleh upaya resusitasi yang dilakukan. Pada saat terjadi kerusakan korteks akibat cedera langsung pada cedera otak traumatik, dapat disertai adanya kerusakan akson dan pembuluh darah. Adanya hubungan anatomis antara akson dan pembuluh darah, cedera primer seringkali menghasilkan cedera simultan pada kedua struktur ini, seringkali tampak secara klinis sebagai perdarahan petechiae pada substansia alba yang menggambarkan *diffuse axonal injury* (DAI). Aspek lain yang penting dari cedera otak primer adalah depolarisasi yang terjadi akibat benturan. Pada saat terjadinya cedera otak traumatik yang berat, terjadi depolarisasi akibat benturan trauma, ditandai dengan peningkatan ion kalium ekstraseluler dan memicu pelepasan neurotransmiter eksitatorik glutamate [19].

### **2.1.2 Traumatic Brain Injury (TBI) sekunder**

Cedera otak sekunder merupakan lanjutan dari cedera otak primer, satu atau lebih kejadian terjadi berturut-turut dan akan memicu terjadinya perburukan fungsi serebral. Klasifikasi etiologi cedera otak sekunder dibedakan menjadi penyebab ekstrakranial dan intrakranial. Penyebab ekstrakranial meliputi hipoksia, hipotensi, hiponatremi, hipertermia, hipoglikemia atau hiperglikemia. Penyebab intrakranial meliputi perdarahan ektradural, subdural, intraserebral, intraventrikular, dan subarachnoid. Selain itu, cedera sekunder juga dapat disebabkan karena pembengkakan dan infeksi. Pembengkakan

intrakranial meliputi kongesti vena/hiperemi, edema vasogenik, edema sitotoksik, dan edema interstisial. Infeksi yang mengakibatkan cedera otak sekunder antara lain meningitis dan abses otak [16].

Hipotensi dan hipoksia merupakan penyebab utama terjadinya cedera otak sekunder yang mengakibatkan terbentuknya lesi iskemik setelah traumatik. Faktor lain yang juga berpengaruh terhadap terjadinya cedera otak sekunder adalah hiperglikemi, hiperkapni, dan hipokapni. Masalah ekstrakranial menghasilkan kerusakan otak sekunder baik oleh hipoksia ataupun oligemia/iskemia. Konsekuensi utamanya adalah pengurangan dalam ketersediaan energi tinggi fosfat (*adenosin triphosphat*, ATP). Hal ini menyebabkan kegagalan pompa membran sehingga memicu kematian sel atau sel menjadi bengkak (edema sitotoksik). Hipotensi terjadi karena adanya oligemia primer dan iskemia yang mempengaruhi zona batas arteri (*arterial boundary zones*). Sedangkan hipoksemia cenderung menyebabkan kerusakan lebih luas yaitu neuronal loss yang akan memicu atrofi kortek pada pasien. Akibat lebih fatal dari hipoksia yang berat dan panjang adalah keadaan vegetatif yang persisten (*persistent vegetatif state/ PVS*) atau kematian. PVS terjadi karena masih adanya refleks batang otak tetapi hilangnya sebagian besar refleks kortek [16].

### **2.1.3 Patofisiologi Traumatic Brain Injury (TBI)**

Tahap pertama cedera otak pasca trauma ditandai dengan kerusakan jaringan langsung, terganggunya regulasi aliran darah serebral (*cerebral blood flow/CBF*), dan terganggunya metabolisme. Iskemia menyebabkan akumulasi asam laktat akibat terjadinya glikolisis anaerob, peningkatan permeabilitas membran, dan pembentukan edema secara berturut-turut. Saat metabolisme anaerob tidak mampu memenuhi kebutuhan energi seluler, terjadilah penurunan simpanan *Adenosin Triphosphate* (ATP) dan kegagalan pompa ion [4].

Tahap kedua dari patofisiologi cedera otak ditandai dengan depolarisasi terminal membran bersama dengan pelepasan berlebihan neurotransmitter eksitasi (glutamat dan aspartat), aktivasi N-metil-D-aspartat,  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoxazolpropionate, dan *voltage-dependent*  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Na}^{+}$ -channels. Influx  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Na}^{+}$  secara terus-menerus akan memicu terjadinya proses katabolisme

intraseluler.  $\text{Ca}^{2+}$  mengaktifkan peroksidase lipid, protease, dan fosfolipase yang akan meningkatkan konsentrasi intraseluler asam lemak bebas dan radikal bebas di intraseluler. Selain itu, terjadi aktivasi *caspases* (ICE-like protein), *translocases*, dan endonuklease yang menginisiasi perubahan struktural progresif membran biologis dan DNA nukleosomal sehingga mengakibatkan fragmentasi DNA dan penghambatan perbaikan DNA. Seluruh proses tersebut memicu degradasi membran vaskuler dan struktur selulernya, sehingga memicu proses nekrosis dan apoptosis pada sel [4].

Cedera otak primer dan sekunder berhubungan dengan pelepasan berlebih neurotransmitter asam amino eksitasi, khususnya glutamat. Kelebihan glutamat ekstraseluler mempengaruhi neuron dan astrosit, hal ini menyebabkan stimulasi berlebih ionotropik dan reseptor metabotropik glutamat dengan aliran  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , dan  $\text{K}^+$ . Meskipun proses tersebut memicu proses katabolik melalui perusakan sawar darah otak, kompensasi selular terhadap gradien ion adalah peningkatan aktivitas  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase dan mengubah kebutuhan metabolik [4].

Stress oksidatif berhubungan dengan jenis oksigen reaktif (oksigen radikal bebas, superoksida, hidrogen peroksida, nitrit oksida, dan peroksinitrit) sebagai respon terhadap cedera otak. Kelebihan produksi jenis oksigen reaktif karena eksitotoksisitas dan kelelahan sistem endogen antioksidan (superoksida dismutase, glutathione peroksidase, dan katalase) akan menginduksi peroksidase selular dan struktur vaskuler, oksidasi protein, pembelahan DNA, dan inhibisi rantai transport elektron mitokondria. Meskipun mekanisme ini cukup menyebabkan kematian sel mendadak, proses inflamasi dan apoptosis diinduksi oleh stress oksidatif [4].

## **2.2 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model TBI**

Hewan laboratorium atau hewan percobaan merupakan hewan yang khusus dikembangkan sebagai hewan model untuk keperluan penelitian laboratorium atau penelitian biologi. Hewan percobaan dipergunakan sebagai model dalam penelitian berkaitan dengan pengaruh obat atau bahan kimia pada manusia. Tikus putih atau *Rattus norvegicus* merupakan salah satu objek percobaan yang dapat digunakan sebagai hewan coba pada suatu penelitian karena

memiliki kemiripan fungsi (fisiologis) dan bentuk organ serta proses biokimia dan biofisik dengan manusia sehingga nantinya hasil penelitian dapat diaplikasikan ke manusia [20].

Penggunaan tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba dikarenakan memiliki keunggulan diantaranya, kemampuan bereproduksi yang tinggi karena tidak memiliki musim kawin, masa bunting yang singkat, penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, sehat, bersih, serta memiliki pola makan dan kebutuhan nutrisi yang hampir sama dengan manusia, sehingga cocok untuk berbagai macam penelitian [21]. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) juga memiliki keunggulan lain yaitu tidak mudah muntah karena mempunyai struktur anatomi yang tidak biasa pada esophagus yang bermuara ke dalam empedu dan tidak mempunyai kantung empedu [20].

*Rattus norvegicus* secara spesifik memiliki ciri-ciri bermata merah, rambut berwarna putih, berat badan pada tikus jantan dewasa 450-520 gram dan betina 250-300 gram. Tikus disapih hingga usia 21 hari dan memasuki masa dewasa pada usia 40-60 hari. Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut [22].

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> L.



**Gambar 2.1** Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar [22].

Tikus putih yang berumur 8-9 minggu masih belum dipengaruhi oleh hormon-hormon pertumbuhan dan seksual [23]. Pemilihan tikus jantan pada beberapa penelitian dikarenakan tikus jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus betina [24]. Kondisi hormonal tikus jantan relatif stabil sehingga tidak banyak mempengaruhi metabolisme tubuh [25].

Anatomi pada otak tikus terdiri dari otak besar (*cerebrum*), otak kecil (*cerebellum*), batang otak, serta *medulla spinalis*. Bagian otak tersebut dibungkus oleh cortex otak yang berfungsi sebagai pelindung otak. Otak tikus juga dibagi menjadi beberapa lobus yaitu lobus frontal, lobus parietal, lobus temporal, dan lobus oksipital. Hewan tikus (*Rattus norvegicus*) model TBI diinduksi anestesi dengan ketamine dan xylazine sebelum beban dijatuhkan pada bagian lobus frontal. Dosis yang diberikan sesuai dosis untuk tikus yaitu ketamine 75-100 mg/kgBB dan xylazine 20 mg/kgBB [22]. Tikus ditempatkan pada platform langsung di bawah alat penjatuh beban. Pada pembedaan tikus dipantau reaksi anestesi dengan mencubit kaki menggunakan pinset. Kulit kepala diinsisi pada garis longitudinal *midline* untuk membuka temperung kepala tikus [26].

### 2.3 Malondialdehida (MDA)

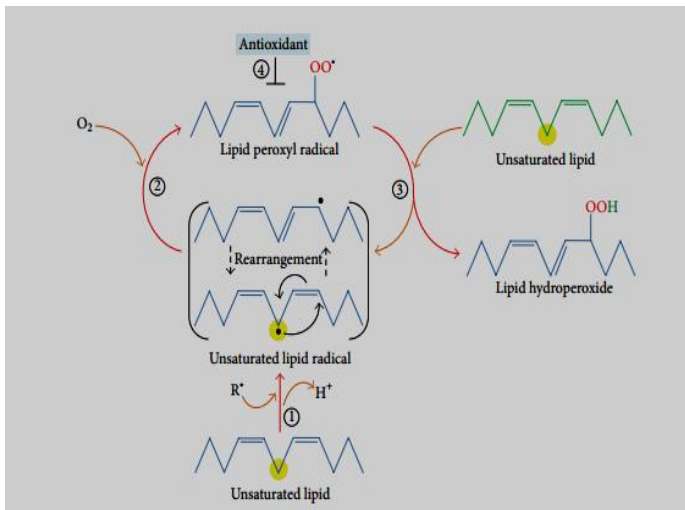
*Reactive Oxygen Species* (ROS) terdiri dari radikal bebas (superoksida, radikal hidroksil, alkoxyl, dan peroxy) dan non radikal (hydrogen peroksida dan hipoklorida). Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluar sehingga bersifat tidak stabil. Radikal bebas berusaha menstabilkan diri dengan mengambil elektron dari molekul lain. Pada keadaan normal terjadi keseimbangan antara pembentukan ROS dan aktivitas antioksidan di dalam sel. Jika keseimbangan tersebut terganggu akan menimbulkan stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan komponen-komponen sel. Salah satu kerusakan yang diakibatkan oleh kondisi stress oksidatif adalah peroksidasi lipid yang akan menghasilkan peroksida lipid [11].

Peroksidasi lipid atau reaksi oksigen dengan lipid tak jenuh menghasilkan berbagai produk oksidasi. Produk utama peroksidasi lipid adalah hidroperoksida lipid (LOOH). Beberapa aldehida yang dibentuk sebagai produk sekunder selama peroksidasi lipid, yaitu malondialdehid (MDA), propanal, heksanal, dan 4 hidroksinonenal (4-HNE). MDA merupakan produk paling mutagenik dari peroksidasi lipid, sedangkan 4-HNE adalah produk paling beracun. MDA telah banyak digunakan selama bertahun-tahun sebagai biomarker untuk peroksidasi lipid dari asam lemak omega-3 dan omega-6 karena bereaksi baik dengan thiobarbituric acid (TBA). Uji TBA didasarkan pada reaktivitas TBA dengan MDA menghasilkan pigmen berwarna merah [27].

MDA terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yang merupakan reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, akibat akhir dari reaksi rantai tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehid utama yang terbentuk pada proses tersebut [10]. MDA mengakibatkan terjadinya inflamasi. Inflamasi merupakan suatu reaksi kekebalan tubuh dalam upaya perlindungan diri terhadap terjadinya kelainan pada tubuh seperti kerusakan jaringan, cedera, trauma, atau infeksi yang melibatkan berbagai mediator. Jumlah MDA berupa suatu nilai yang

dihasilkan dari peroksidasi lipid yang dapat digunakan dalam pengukuran aktivitas radikal [28].

Peroksidasi lipid pada TBI ditandai oleh dua jalur utama yaitu enzimatik dan non-enzimatik. Jalur enzimatik melibatkan aktivasi fosfolipase  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>), cyclooxygenases (COX), lipoxygenases (LOX) dan peroksidase lainnya. Jalur non-enzimatik terutama melibatkan interaksi logam transisi dengan spesies oksigen reaktif (ROS). Cedera otak traumatik menyebabkan terganggunya sistem pertahanan seluler terhadap peroksidasi lipid. Sistem pertahanan ini mencakup berbagai enzim penghambat radikal bebas seperti sebagai katalase, superoksida dismutase (SOD) dan glutathione (GPx) serta antioksidan eksogen seperti Vitamin C dan E. Akumulasi produk peroksidasi lipid dalam tubuh diketahui menjadi racun pada sel. Mediator lipid yang dihasilkan dari reaksi oksidasi atau radikal bebas atau PUFA terlibat dalam disregulasi aliran darah otak, kerusakan penghalang pada darah otak, aktivasi respon inflamasi dan kematian sel yang terprogram. Di sisi lain beberapa mediator lipid yang dihasilkan dari enzimatik *multistage* oksidasi PUFA mendukung terjadinya proses resolusi inflamasi [29].



**Gambar 2.2** Proses peroksidasi lipid [27].



## 2.4 Apoptosis Akibat ROS pada TBI

Nekrosis dan apoptosis merupakan dua jenis kematian sel yang fundamental. Nekrosis adalah kejadian kematian sel yang pasif, terutama terjadi karena tidak tersedianya ATP yang akan menyebabkan kegagalan pompa ion  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , pembengkakan sel, lisis dan bocornya komponen intrasel ke jaringan di sekitarnya. Proses nekrosis ini akan diikuti oleh respon inflamasi dan edema. Apoptosis, atau kematian sel yang terprogram secara klasik adalah proses bunuh diri sel yang terjadi pada masa pertumbuhan untuk mengeliminasi kelebihan sel tanpa mengakibatkan adanya reaksi inflamasi. Apoptosis dapat dilihat secara biokimia dan morfologis. Secara biokimia apoptosis menunjukkan adanya pelepasan sitokrom-c mitokondria, aktivasi caspase dan nuklease yang akan mengakibatkan terjadinya fragmentasi DNA. Apoptosis secara morfologis akan menunjukkan adanya pengkerutan sel, kondensasi inti sel, pembentukan badan apoptosis dan dis-integrasi sel [30].

Terdapat hubungan yang jelas antara apoptosis, nekrosis dan stress oksidatif. Paparan terhadap  $\text{H}_2\text{O}_2$  dalam jumlah besar akan mengakibatkan terjadinya nekrosis, sedangkan paparan dalam jumlah sedang akan menimbulkan terjadinya apoptosis. Langkah signifikan yang memulai kaskade apoptosis adalah terjadinya pelepasan sitokrom-c dari mitokondria. Sitokrom-c adalah protein dari ruang intermembran mitokondria yang larut dalam air, serta merupakan komponen esensial dari rantai respirasi. Sekali terlepas dari mitokondria, sitokrom-c berinteraksi dengan faktor-faktor sitosol lainnya seperti dengan Apaf-1, d-ATP dan caspase-9 untuk mengaktivasi caspase-3, yang akan mengakibatkan terjadinya fragmentasi DNA dan proses apoptosis selanjutnya dengan bantuan enzim nuklease [30].

## 2.5 Heat Shock Protein 70 (HSP70)

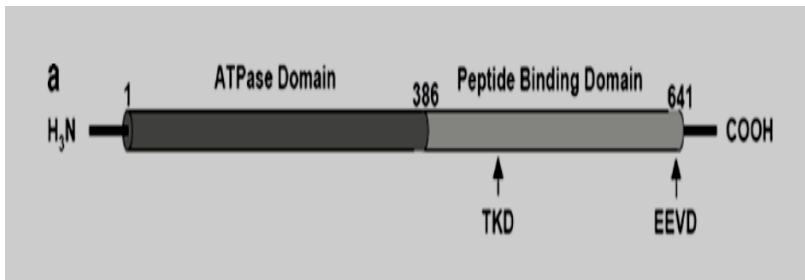
Hsp adalah suatu protein yang disebabkan adanya *heat shock response* (HSR). HSR merupakan suatu respon berbasis genetik yang berfungsi untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperon*, protease, dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded* protein. HSR adalah suatu

tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik bersifat fisiologik (*physiological*) maupun yang berasal dari lingkungan (*environmental*) [13].

Hsp merupakan suatu *molecular chaperon* yang berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru atau pelipatan kembali protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak cukup parah, serta mengasingkan protein yang rusak menjadi agregat yang lebih besar. Klasifikasi kelas-kelas Hsp dilakukan berdasarkan ukuran molekul dan fungsinya, yaitu Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 (*J-domain proteins*) dan *small heat shock protein* (sHsp). Angka yang mengikuti kata Hsp menunjukkan berat molekulnya. sHsp adalah sub-kelas dari Hsp yang mempunyai karakter massa molekular monomer yang rendah (9-40 kDa) [13].

Ekspresi Hsp dapat diinduksi oleh berbagai macam *stressors*, diantaranya kenaikan temperature, logam-logam berat, *small molecule chemical toxicants*, infeksi, dan gangguan radikal bebas. Mutasi dan pengaruh lingkungan seperti peradangan, iskemia, luka dan pemulihan jaringan, kanker serta penyakit-penyakit neurodegeneratif juga diketahui berkaitan dengan ekspresi Hsp abnormal [13].

*Heat shock 70 kDa protein* (HSP70s) merupakan molekul *chaperon* yang memiliki fungsi dalam berbagai proses biologis, seperti memodulasi pelipatan dan perakitan polipeptida, pelipatan protein yang gagal melipat (*misfolded protein*), degradasi dan translokasi protein antar membran, serta interaksi protein-protein [31] (Kampinga, *et al*, 2010). Sel manusia mengandung beberapa anggota keluarga Hsp70, yaitu Hsc70, mitokondria Hsp75, dan GRP78, yang terdapat di dalam retikulum endoplasma. Struktur Hsp70 terdiri dari dua bagian fungsional yaitu *peptide binding protein* (PBD) dan *amino-terminal ATPase domain* (ABD). PBD yang mencakup terminal karboksil *chaperon* motif, bertanggung jawab dalam pengikatan dan pelipatan substrat. ABD memfasilitasi pelepasan protein klien setelah hidrolisis ATP [32].



**Gambar 2.3** Struktur HSP70 [32].

Aktivitas *chaperon* HSP70 diregulasi oleh *co-chaperon* seperti Hip, CHIP atau Bag-1. *Co-chaperon* ini akan mengikat Hsp70 dan memodulasi fungsi *chaperon* Hsp70 dengan meningkatkan atau menurunkan afinitas Hsp70 untuk substrat tertentu melalui stabilisasi dari ADP atau ATP yang terikat pada Hsp70. Beberapa fungsi Hsp70 sebagai *house-keeping* meliputi: (1) memasukkan protein dalam kompartemen selular, (2) pelipatan protein di dalam sitosol, endoplasma retikulum dan mitokondria, (3) degradasi protein yang tidak stabil, (4) disolusi kompleks protein, (5) mengontrol protein regulasi, (6) pelipatan kembali *misfolded* protein dan (7) translokasi protein prekursor ke dalam mitokondria [32].

## 2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitasnya bisa dihambat. Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis disebut juga antioksidan primer atau antioksidan endogen, diantaranya GPx, catalase, dan SOD. Sedangkan, antioksidan non enzimatis disebut juga antioksidan sekunder atau antioksidan eksogen, digolongkan sebagai yang larut dalam lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin, sementara yang larut dalam air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam dan protein pengikat heme [33]. Di

samping itu, dikenal juga antioksidan sintetik seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) [34].

## **2.7 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)**

### **2.7.1 Gambaran umum**

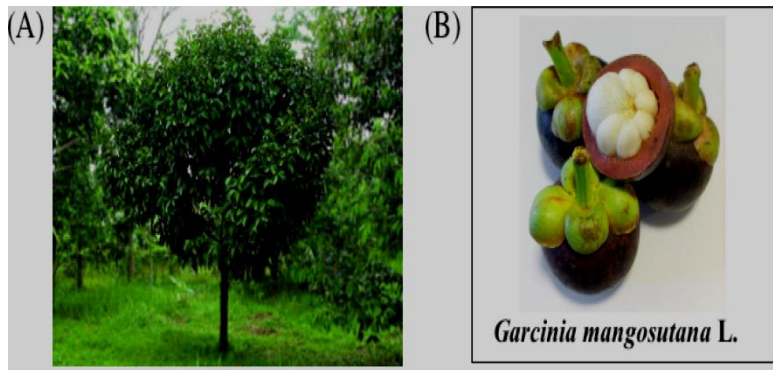
Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman hijau yang banyak tumbuh di hutan tropis dengan pertumbuhan yang lambat. Tanaman ini banyak ditemukan di daerah hutan hujan dataran rendah seperti India, Indochina, Indonesia, Afrika Tengah dan Barat, serta Brazil [35]. Berikut merupakan taksonomi dari manggis (*Garcinia mangostana* L.) [36]:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Klas	: Angiospermae
Sub-klas	: Dicotyledonae
Ordo	: Guttiferales
Family	: Guttiferae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> L.

Baik di habitat alami maupun yang dibudidayakan, tanaman yang sekerabat dengan kandis itu dapat mencapai tinggi 25 m dengan diameter batang mencapai 45 m. manggis mampu tumbuh dengan baik pada ketinggian 0-600 mdpl. Suhu udara rata-rata 20-30°C, pH tanah berkisar 5-7. Pada lahan dengan pH asam seperti di lahan gambut, manggis tetap mampu tumbuh dengan baik. Curah hujan yang sesuai untuk pertumbuhan manggis berkisar 1500-3000 mm/tahun yang merata sepanjang tahun [37].

Buah manggis berbentuk bulat dan berjuring, sewaktu masih muda permukaan kulit buah berwarna hijau dan akan berubah setelah matang menjadi ungu kemerahan atau merah muda. Kulit buah manggis ukurannya tebal dan mengandung getah berwarna kuning dan mempunyai rasa pahit. Secara tradisional kulit buah manggis dapat digunakan untuk mengobati sariawan, disentri, nyeri urat, dan sembelit, sedangkan kulit batangnya dapat digunakan untuk

mengatasi nyeri perut serta akarnya untuk mengatasi siklus haid yang tidak teratur [38].



**Gambar 2.4** (A) Pohon manggis, (B) Buah manggis [39].

### 2.7.2 Kandungan kulit manggis

Buah manggis mengandung mineral yang bermanfaat bagi tubuh. Kandungan mineral buah manggis di antaranya adalah Na 1,1 mg/100 g, K 101,3 mg/100 g, Mg 13,2 mg/100 g, Ca 12,3 mg/100 g, Fe 512,6 µg/100 g, Mn 112,6 µg/100 g, Zn 31,6 µg/100 g dan Cu 8.7 µg/100 g berat basah [40]. Sifat antioksidan kulit buah manggis dikaitkan dengan adanya bahan aktif terutama dari kulit buah. Bahan aktif yang telah berhasil diidentifikasi dari kulit buah manggis berupa sejumlah besar senyawa xanthone, di antaranya adalah 8-hydroxycudraxanthone G, mangostingone [7-methoxy-2-(3-methyl-2-butenyl)-8-(3-methyl-2-oxo-3-butenyl)-1,3,6-trihydroxyxanthone], cudraxanthone G, 8-deoxygartanin, garcimangosone B, garcinone D, garcinone E, gartanin, 1-isomangostin,  $\alpha$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin, mangostinone, smeathxanthone A, dan tovophyllin A. Di antara senyawa xanthone,  $\alpha$ -mangostin dan  $\gamma$ -mangostin merupakan komponen terbesar. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan peroksinitrit sebagai radikal bebas diketahui bahwa 8-hydroxycudraxanthone G, gartanin,  $\alpha$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin dan smeathxanthone A merupakan komponen yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar [41].

Xanthone merupakan senyawa hidrofobik dengan cincin aromatik trisiklik yang terdiri dari substitusi isoprenyl, hidroksil, dan

methoxyl.  $\alpha$ -Mangostin ( $\alpha$ -MG) dan  $\gamma$ -mangostin ( $\gamma$ -MG) merupakan senyawa xanthone yang paling melimpah di dalam kulit buah manggis. Dalam studi *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa xanthone dapat digunakan sebagai antioksidan, antiproliferatif, antimikroba, anti-inflamasi, dan anti kanker [14].

Kadar xanthone berbeda tergantung pada kualitas buah, di mana kadar terbesar didapatkan pada buah dengan kulit burik atau kasar yakni sebesar 23,544  $\mu\text{g/g}$  ekstrak, sedangkan pada buah besar dengan kulit mulus mengandung kadar xanthone sebesar 18,502  $\mu\text{g/g}$  ekstrak, buah kecil sebesar 20,434  $\mu\text{g/g}$  dan buah dengan kulit mengandung getah kuning 15,289  $\mu\text{g/g}$  ekstrak. Buah dengan kulit burik terjadi akibat adanya serangan hama atau akibat kerusakan fisik. Dalam kondisi tersebut xanthone berperan sebagai mekanisme pertahanan dalam mencegah terjadinya stres akibat serangan hama tersebut atau kerusakan fisik. Namun demikian, sifat sebagai antioksidan yang diuji dengan menggunakan DPPH sebagai sumber radikal bebas, ekstrak methanol kulit buah manggis tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kualitas buah [42].

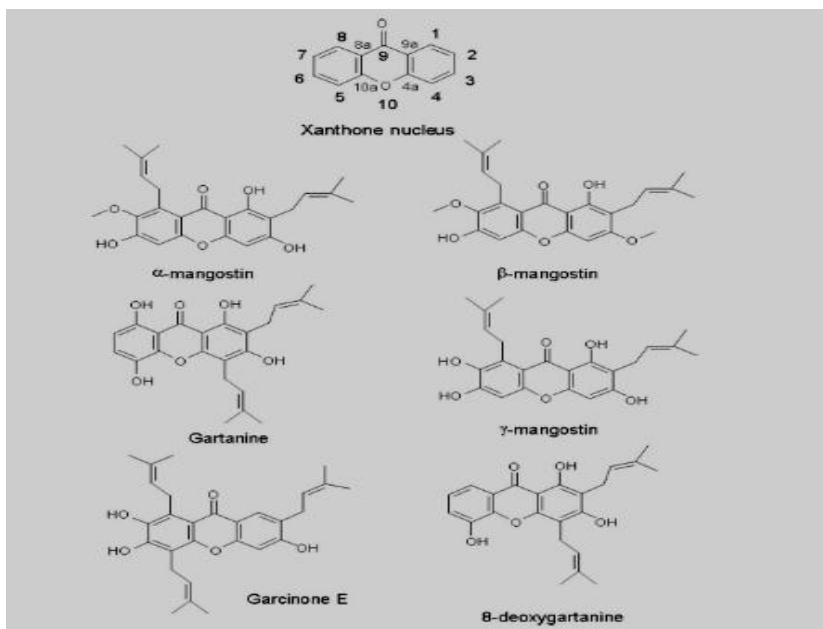
Xanthone termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid. Senyawa ini memiliki dua cincin benzene dan satu cincin piran. Inti xanthone dikenal sebagai 9-xanthenone atau dibenzo-c-pyrone. Xanthone dapat diklasifikasikan ke dalam lima kelompok yaitu oxygenated xanthone, xanthone glycoside, prenylated xanthone, xanthonolignoid, dan miscellaneous xanthone. Saat ini sekitar 1000 xanthone berbeda telah diketahui [43].

Xanthone telah diisolasi dari seluruh bagian tumbuhan manggis (*Garcinia mangostana* L), terutama kulit buah, seluruh buah, kulit batang, serta daun. Di antara senyawa xanthone tersebut,  $\alpha$ -,  $\beta$ -, dan  $\gamma$ -mangostin, garcinone E, 8-deoxygartanin, dan gartanin paling banyak dipelajari. Di samping itu, xanthone sintetik juga telah digunakan pada beberapa penelitian. Inti xanthone dan beberapa golongan xanthone lainnya ditampilkan pada Gambar 2.5, sedangkan xanthone yang diisolasi dari kulit buah manggis ditampilkan pada Tabel 2.1 [43].

**Tabel 2.1** Jenis xanthone yang ditemukan dalam kulit buah manggis [43].

<b>Senyawa turunan xanthone yang terkandung dalam kulit manggis</b>	<b>Efek/manfaat</b>
$\alpha$ -mangostin	Antioksidan, antitumoral, antiinflamasi, antialergi, antibakteri, antifungal, antivirus, antimalarial
$\beta$ -mangostin	Antitumoral, antialergi, antibacterial, antimalarial
$\gamma$ -mangostin	Antiinflamasi, antialergi, antibakteri, antifungal, antitumoral, antivirus
Mangostanol	Antibacterial
Mangostenol	Antibacterial
Mangostin	Antimikrobal
1-isomangostin	Antiinflamasi, antibacterial, antioksidan
3-isomangostin	Antibacterial
Toxyloxanthone A (trapezifolixanthone)	Antibakterial
Smeathxanthone A	Antioksidan
Demethylcalabaxanthone	Antibakterial
Euxathone	Antifungal
Cudraxanthone	Antioksidan
8-hydroxycudraxanthone G	Antioksidan
BR-xanthone A	Antifungal
BR-xanthone B	Antifungal
Mangostenone A	Antibacterial
Mangostenone C	Antitumoral
Mangostenone D	Antitumoral
Mangostenone E	Antitumoral
Mangostinone	Antioksidan, antitumoral
Gartanin	Antitumoral, antibacterial, antioksidan, antifungal

8-deoxygartanin	Antifungal, antioksidan
Garcinone B	Antiinflamasi, antibacterial
Garcinone C	Antitumoral
Garcinone D	Antitumoral, antifungal, antioksidan, antibacterial
Garcinone E	Antioksidan, antitumoral, antibacterial
Garcimangosone B	Antioksidan
Tovophyllin A	Antioksidan
Tovophyllin B	Antibacterial
1,7-dihydroxy-2-isoprenyl-3-methoxyxanthone	Antitumoral
Methoxy- $\beta$ -mangostin	Antitumoral



**Gambar 2.5** Senyawa xanthone [43].

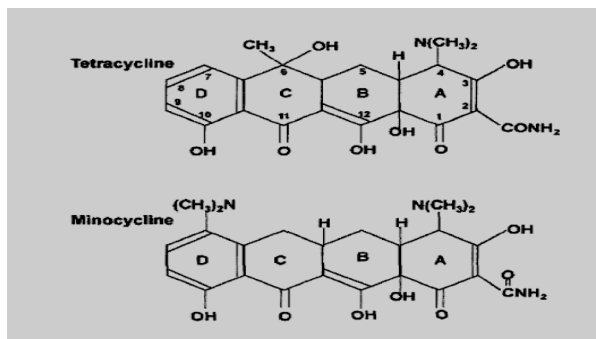
Xanthone sebagai antioksidan eksogen dapat bekerja dengan dua cara, pertama sebagai antioksidan langsung dengan mekanisme menangkap radikal bebas, yang kedua sebagai antioksidan tidak



langsung yang meningkatkan status antioksidan baik sistem enzimatis maupun sistem non-enzimatis. Xanthone bekerja dengan cara menangkap radikal bebas dan menurunkan peroksida lipid. Penangkapan radikal bebas yang merupakan mediator inflamasi dalam memicu keluarnya sitokin proinflamasi membuktikan bahwa alfa mangostin juga mempunyai efek antiinflamasi. Alfa mangostin menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang menghambat fase inflamasi akut dan kronis secara signifikan dan *dose-dependent*. Gamma mangostin berperan dalam menghambat aktivitas siklooksigenase dan menekan konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin E2 [44].

## 2.8 Minocycline

Turunan tetrasiklin yaitu minocycline yang dibuat pada tahun 1960-an dilaporkan menjadi turunan tetrasiklin yang baik dengan aktivitas neuroprotective. Minocycline mempunyai penyerapan yang lebih besar melintasi penghalang darah pada otak dan memiliki paruh hidup lebih lama. Awalnya, minocycline hanya digunakan sebagai antibiotik yang efektif menangkalkan resiko akibat bakteri gram positif dan gram negatif gram. Mekanisme minocycline sebagai antibiotik identik dengan tetrasiklin lainnya, yaitu menghambat sintesis protein bakterial dengan menyerang 16S RNA. Struktur kimia yang membedakan minocycline dengan tetracycline adalah adanya substitusi senyawa diethylamino pada C7 dan tidak adanya group fungsional pada C6, sehingga lebih lipofilik [15].



**Gambar 2.6** Struktur tetracycline dan minocycline [15].

Beberapa sifat non-antibiotik minocycline telah diidentifikasi, termasuk fungsinya sebagai anti-inflamasi dan anti-apoptosis. Secara klinis, minocycline digunakan untuk pengobatan penyakit inflamasi seperti acne vulgaris dan rheumatoid arthritis. Penelitian terbaru menyatakan bahwa minocycline dapat digunakan sebagai neuroprotective dan bermanfaat dalam pengobatan beberapa penyakit neurodegenerative seperti, iskemia serebral, cedera otak traumatis, amyotrophic sklerosis lateral, penyakit parkinson dan penyakit Huntington [15].

Sejak diperkenalkan pada tahun 1967, minocycline mempunyai beberapa sifat non-antibiotik yang telah diidentifikasi. Minocycline dapat bertindak sebagai anti inflamasi dengan mengurangi aktivitas protein metalloproteinase (MMP) dan kolagenase sinovial, minocycline juga menurunkan kemampuan sel T bermigrasi melalui basal lamina di sekitar pembuluh darah dan matriks ekstraseluler. Sebagai hasilnya, sel T yang kurang efisien di jaringan infiltrasi pada lokasi inflamasi sehingga memperlambat perkembangan proses inflamasi. Minocycline menghambat fosfolipase A2 dan meregulasi produksi sitokin anti inflamasi IL-10. Minocycline juga menghambat ekspresi sintesis oksida nitrat. Di samping itu, minocycline dapat menghambat proliferasi dan aktivasi mikroglia serta menghambat respon inflamasi mikroglial dalam berbagai penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Huntington dan penyakit Parkinson. Sebagai akibat dari tindakan anti-inflamasi, minocycline saat ini digunakan untuk pengobatan klinis penyakit inflamasi seperti acne vulgaris dan rheumatoid arthritis [15].

Penelitian terbaru menyatakan bahwa minocycline memiliki potensi sebagai neuroprotective untuk beberapa penyakit neurodegenerative serta penyakit neurologis yang disebabkan virus (virus *West Nile* dan virus *Japanese encephalitis*). Karakteristik dari beberapa penyakit neurodegenerative adalah kematian sel saraf. Minocycline mengurangi kematian sel saraf (apoptosis) dengan penghambatan langsung oleh pelepasan sitokrom c dari mitokondria sehingga menyebabkan aktivasi caspase-3 [15].